(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Berlin).

Lane Medical Library

Die reduzierenden Wirkungen des Gewebes

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfaßt und einer hohen medizinischen Fakultät

der

Universität zu Berlin

vorgelegt von

Walter Strassner

Marine-Unterarzt bei der II. Matrosen-Division

Tag der Promotion 12. 8. 1910.

Verlagsbuchhandlung von Julius Springer in Berlin

1910

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Berlin.

Referent: Geh. Rat Prof. Dr. Heffter.

Zur Erforschung der reduzierenden Wirkungen des Gewebes sind schon oft Untersuchungen angestellt worden. Unter den Erforschern derselben ließen z. B. P. Ehrlich[1]), A. Maaßen[1]), Johannsen[1]), Wichern[2]), das Gewebe auf Farbstoffe, z. B. Methylenblau einwirken; Bernstein[1]) bediente sich zur Feststellung der Reduktion von O-Hämoglobin des Spektroskopes; wieder andere ließen Gewebe chemische Verbindungen reduzieren; so reduzierte Binz[1]) Arsensäure zu arseniger Säure, Maaßen[1]) Nitrate zu Nitriten, Heffter[1]) die Kakodylsäure, Schwefel zu Schwefelwasserstoff. Auch hat man die verschiedenartigsten Gewebe, tierische wie pflanzliche, selbst einige Eiweißkörper zu diesen Untersuchungen verwendet.

Auf Grund der obenerwähnten Arbeiten der verschiedenen Autoren muß man annehmen, daß die reduzierende Kraft des Gewebes auf verschiedenen chemischen Vorgängen beruht. Hierbei werden von Heffter 2 Hauptgruppen unterschieden:

1. die Reduktion der Nitrate, die durch Blausäure gehemmt, durch Aufkochen völlig zerstört wird,

2. die Reduktion der Farbstoffe, des Schwefels usw., die durch Blausäure nicht beeinflußt, bei 100° höchstens verringert wird.

Französische Autoren[3]) führen die Reduktion auf Fermenteinwirkung, auf Reduktasen und Hydrogenasen zurück. Diese Ansicht läßt sich jedoch nicht mit der völligen Zerstörung der

---

[1]) Zit. bei Heffter, Die reduzierenden Bestandteile der Zellen. Medizinisch-naturwissenschaftl. Arch. 1, H. 1.

[2]) H. Wichern, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, H. 5 u. 6, S. 365.

[3]) Vgl. Heffter a. a. O.

reduzierenden Kraft durch Luftsauerstoff in Einklang bringen, während diese Eigenschaft den Sulfhydryl- oder SH-Gruppen enthaltenden Körpern, wie Thiophenol, Äthyl-, Benzylmerkaptan und Thioglykolsäure, zukommt. Diese Verbindungen reduzieren Schwefel, auch Kakodylsäure, geben ihr H-Atom aus der SH-Gruppe an S oder Luft-O ab und bilden Dithioverbindungen.

Meine Versuche hatten zur Aufgabe, zu prüfen:

1. ob die reduzierende Wirkung des Gewebes auf Methylenblau ausschließlich auf die in ihm enthaltenen SH-Gruppen zurückzuführen ist,

2. ob die Reduktionsprozesse, die durch Sulfhydrylgruppen verursacht werden, durch Gewebebestandteile (Katalysatoren) beschleunigt werden,

3. ob die reduzierende Wirkung des Gewebes durch Gifte oder andere Einflüsse, wie Hunger, Blutentziehung beeinflußt wird.

Bei allen früheren Versuchen ist meist nur die qualitative Seite betont worden, während die quantitativen Verhältnisse entweder gar nicht erwähnt oder nur annähernd bestimmt worden sind.

Methodik: Um nun auf die quantitative Bestimmung der reduzierenden Kraft des Gewebes näher einzugehen, habe ich meiner Arbeit die Einwirkung von Kaninchenleber auf Methylenblau zugrunde gelegt. Dieser Farbstoff hat den Vorteil, daß er weder auf Bakterien noch Gewebe schädigend einwirkt; auch läßt sich nach der von Ed. Knecht und Eva Hibbert[1]) angegebenen Methode das nicht reduzierte Methylenblau leicht quantitativ bestimmen. Bei der reduzierenden Einwirkung des Gewebes wird Methylenblau in eine farblose Leukobase verwandelt. Neben diesem Prozeß geht noch ein zweiter her, bei dem das Methylenblau eine farblose Doppelverbindung eingeht, die sich nicht wie die Leukobase an der Luft direkt, sondern erst bei Zusatz von Salzsäure oxydiert.[2])

---

[1]) Ed. Knecht und Eva Hibbert, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 3318, 1905, und 36. Jahrg., 2, 1549, 1903 und Wichern a. a. O.

[2]) A. Herter, Über die Anwendung reduzierbarer Farbstoffe beim Studium von Giften und ihre Wirkung auf die Zelltätigkeit. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 42.

Da die von Knecht und Hibbert angegebene Konzentration der Titantrichloridlösung für die Gewebeuntersuchung zu konzentriert ist, so habe ich folgende Mischung für meine Versuche verwandt. 15% Titantrichloridlösung (Merck, Darmstadt) und konz. Salzsäure je 9 ccm werden zur Entfernung des Schwefelwasserstoffes kurze Zeit über der Flamme erhitzt und mit sauerstofffreiem Wasser mit einem Überschuß von Salzsäure auf 3 l aufgefüllt. Die fertige Lösung ist am zweckmäßigsten in einer von Treadwell[1]) angegebenen Flasche unter Sauerstoffabschluß aufzubewahren. Auch muß die Lösung, um den freien Sauerstoff zu resorbieren, einige Stunden bis zum Gebrauch stehen.

Diese Titantrichloridlösung wird zu 50 ccm empirischer Ferrichloridlösung, die mit einigen Tropfen Rhodankaliumlösung versetzt ist, zwecks Einstellung unter Einleitung von Kohlenoxyd ins Glas bis zur Entfärbung titriert, da saure Ferrisalzlösung mit Titanochlorid in der Kälte zu Ferrosalzen reduziert wird.

$$FeCl_3 + TiCl_3 = TiCl_4 + FeCl_2$$

Die empirische Ferrisalzlösung von bekanntem Gehalt stellt man sich durch Erhitzen von 10,03 blankgeriebenem Blumendraht und Salzsäure in langhalsigem, schrägliegendem Kolben her, oxydiert sie mit Kaliumchlorat und vertreibt den Chlorüberschuß durch langes Kochen. Hierauf wird die Lösung mit Wasser auf 1 l aufgefüllt, so daß 50 ccm Lösung 0,5 Fe enthalten.

Den Titer der Titantrichloridlösung, der sich mit der Zeit verändert, muß man möglichst oft nachprüfen. Auch ist es zweckmäßig, eine Methylenblaulösung von bekanntem Gehalt zum Vergleich des Titers heranzuziehen, um sie der Ferrisalzlösung gegenüber zu stellen.

Die in den Versuchen benutzte Methylenblaulösung (1—6 : 1000) wurde vor jeder Versuchsreihe mit der Titantrichloridlösung titriert. Hierbei wurde folgendermaßen verfahren: Der zu titrierenden Methylenblaulösung werden einige Kubikzentimeter 15—20%ige Schwefelsäure hinzugesetzt. Die Mischung wird, um die Gefahr des Übertitrierens zu vermeiden,

[1]) Treadwell, Analyt. Chem., 4. Aufl. 1907, S. 529.

erhitzt. Auch titriert man, um den Farbenumschlag genau zu erkennen, am besten bei Tageslicht.

Auf die erwähnte 1—6‰ige Methylenblaulösung läßt Wichern im Gegensatz zu Johannsen, der nur das Verhältnis der entfärbten, reduzierten Schicht zur ganzen Höhe im Reagensglas vergleicht, Gewebe 48 Stunden im Brutschrank einwirken und stellt durch Titration die reduzierte Menge fest. Da jedoch nicht immer dieselbe Gewichtsmenge von Gewebe angewendet ist, so ist ein Vergleich schwer. Um nun einen genauen Vergleich ziehen zu können, habe ich stets bei meinen Versuchen abgewogenes Gewebe (1—2 g) auf eine bestimmte Menge Methylenblaulösung, deren Prozentgehalt bekannt ist, eine bestimmte Zeit einwirken lassen. Die Bakterieneinwirkung wurde dadurch ausgeschaltet, daß einige Kubikzentimeter Chloroform dem Gemenge zugesetzt werden. Plattenversuche auch nach Verdampfung des Chloroforms haben ergeben, daß nur ganz vereinzelte Keime vorhanden waren, so daß sie auf das Resultat der Untersuchung keinen Einfluß hatten.

Um den Luftsauerstoff von der Mischung fernzuhalten, wird das Gewebe mit flüssigem Paraffin, durch das beim späteren Titrieren das mindestens 10 cm lange Ausflußrohr der Bürette durchgeführt wird, überschichtet, und das Gefäß mit einem Stöpsel verschlossen, der festgebunden und mit festem Paraffin abgedichtet wird.

Gleich bei meinen ersten Versuchen bemerkte ich, daß es sehr darauf ankommt, wie man die Mischung herstellt. Um genaue Resultate zu erhalten, müssen verschiedene Vorsichtsmaßregeln beobachtet werden. Es muß das zu untersuchende Gewebe möglichst wenig mit der atmosphärischen Luft in Berührung kommen, auch muß es fein zerkleinert werden. Daß die Dauer der Zubereitung einen großen Einfluß auf die reduzierende Kraft des Gewebes hat, zeigt folgender Versuch. Beim Überschütten des Gewebes mit Methylenblaulösung werden nur 5,0—6,0 mmg Methylenblau reduziert, da das Abmessen der Lösung und das Abwiegen des Gewebes eine geraume Zeit in Anspruch nimmt, während 7,1—9,0 mmg reduziert werden, wenn man das Gewebe in die fertig abgemessene Lösung hineinwirft. Auch empfiehlt es sich, das Gewebe zu hacken, um es möglichst innig mit der Lösung in Berührung zu bringen. Ge-

webestücke, ebenso durch Hackmaschinen gepreßtes Gewebe geben schlechtere Resultate, weil bei ersterem nur eine kleine Fläche reduzieren kann, bei letzterem das Zerkleinerungsverfahren zu lange dauert und das Gewebe mit der Luft zu lange in Berührung kommt, ja selbst mit ihr stark vermischt wird.

Parallelversuche, bei denen das Lebergewebe desselben Tieres mit Methylenblaulösung überschichtet wurde, haben folgendes ergeben:

Art der Zubereitung	Reduzierte Millimilligramm Methylenblau (durch Leber 1,0)	
durch die Hackmaschine getrieben .	3,9	2,9
gehackt	6,0	5,0
in Stücken	3,0	5,0

(Von den „Stücken" war das erste ganz geblieben, das zweite war wahrscheinlich durch Autolyse zerfallen und hatte so fast die doppelte Menge Methylenblau reduziert.)

An der Hand weiterer Versuche hat sich herausgestellt, daß die Reduktionsfähigkeit der einzelnen tierischen Organe verschieden stark ist, was übrigens schon P. Ehrlich und andere[1]) qualitativ festgestellt haben, denn es reduzierten von demselben Kaninchen, dessen verschiedene Gewebe mit 1 $^0/_{00}$iger Methylenblaulösung überschichtet wurden:

Gramm	Gewebeart	Reduz. Millimilligramm Methylenblau	
1,0	Herz	0,65	0,8
1,0	Gehirn	1,0	—
1,0	Muskel	1,1	1,1
1,0	Lauge	2,3	2,4
1,0	Darm	3,5	3,6
1,0	Niere	4,4	—
1,0	Leber	5,5	5,5

Da Herz, Gehirn, Muskel und Lunge nur eine spärliche Reduktion ausüben, die Niere wenig Material bietet, der Darm durch das Reinigen mit Wasser leicht seine reduzierende Kraft einbüßt, so eignet sich für eine vergleichende Versuchsreihe nur die Leber. Bei wenigen Versuchen wurde auch die Niere angewendet.

[1]) Vgl. A. Heffter a. a. O.

1. Die reduzierende Kraft des Gewebes auf Methylenblau ist durch Sulfhydrylgruppen bedingt.

Zunächst wurde in einer Reihe von Versuchen der Ablauf der Methylenblau-Reduktion durch Lebergewebe untersucht.

In diesen Versuchen setzte ich zu gleicher Zeit in oben beschriebener Weise von einer zerhackten Kaninchenleber verschiedene Portionen zu je 2 g auf 10—20 ccm einer 2 $^0/_{00}$igen Methylenblaulösung an, ließ sie im Brutschrank bei 37° auf die Lösung einwirken und titrierte von Zeit zu Zeit einige von diesen Reduktionsversuchen.

Es reduzierten hierbei 1 g Kaninchenleber:

Stunden	2	4	6	8	10	12	24	30	
Versuch 1	2,2 2,3	4,35 4,2	4,3 5,0	5,3 —	6,9 —	6,6 8,4	8,3 —	9,2 —	Reduzierte Milli-milligramm Methylenblau
Versuch 2	1,25 1,85	3,3 3,65	4,3 4,8	— —	— —	— —	7,6 —	— —	
Versuch 3	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	

Stunden	36	48	72	96	120	144	168	192	
Versuch 1	9,4 —	9,6 —	9,15 —	10,4 —	10,3 —	8,9 —	— —	9,0 —	Reduzierte Milli-milligramm Methylenblau
Versuch 2	— —	8,2 —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
Versuch 3	— —	— —	— —	— —	6,8 7,0	6,6 —	5,3 6,8	6,0 7,3	

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Gewebe innerhalb der ersten 24 Stunden sehr stark reduziert und ungefähr am zweiten bis dritten Tage seinen Höhepunkt mit 10 mmg reduziertem Methylenblau auf 1 g Lebergewebe erreicht hat. Nach dieser Zeit wird das Methylenblau anscheinend wieder durch sekundäre Prozesse oxydiert.

Die quantitative Begrenzung der Reduktion weist darauf hin, daß die reduzierenden Substanzen bei diesem Prozesse verbraucht werden, eine Tatsache, die gut mit der Ansicht übereinstimmt, daß die vorhandenen Sulfhydrylgruppen bei der Reduktion zerstört werden; für einen fermentativen Prozeß wäre die Tatsache, daß 1 g Lebergewebe nur 10 mmg Methylenblau reduzieren können, wenig verständlich.

Da also infolge obiger Versuche wahrscheinlich chemische Gruppen in Betracht kommen, so liegt der Vergleich mit der Wirkung ähnlich konstituierter Verbindungen nahe.

Heffter[1]) nennt einige in seiner Arbeit über die reduzierenden Bestandteile der Zellen. So wird Methylenblau reduziert durch Thioglykolsäure, Cystein und Thiophenol, die alle SH-Gruppen enthalten und ebenso wie die meisten Gewebearten, welche die Natriumnitroprussidreaktion auf SH-Gruppen geben, nur begrenzt SH_2 bilden können.

Von den oben erwähnten chemischen Verbindungen habe ich selbst die reduzierende Kraft der Thioglykolsäure nachgeprüft.

So reduzieren 0,5 ccm Lösung von Thioglykolsäure 1,0/25, die mit Natriumcarbonat neutralisiert war, im Brutschrank bei 37°:

Stunden	2	4	6	24	33	48	72	96	120	168	
Versuch 1	7,8	12,6	22,0	17,6	—	15,8	10,8	7,8	—	—	Reduzierte Milli-
	7,2	—	—	18,8	—	—	11,4	8,2	—	—	
Versuch 2	—	—	—	16,0	22,0	21,8	21,1	19,4	16,8	13,3	milligramm Methylenblau
	—	—	—	—	—	25,2	—	—	—	—	

Auch hier ist wieder die Reduktion in den ersten 24 Stunden sehr beschleunigt, erreicht nach 48 Stunden ihren Höhepunkt und fällt dann wieder. Die große Differenz der reduzierten Mengen von Methylenblau zwischen Versuch 1 und 2 ist durch die Reinheit und das Alter der leicht oxydierbaren Thioglykolsäurelösung bedingt, da dieselbe durch Stehen allmählich zu Dithioglykolsäure oxydiert wird.

Als weitere Eigenschaft kommt den oben erwähnten Verbindungen zu, daß sie autoxydabel sind und dann ihre Reduktionskraft verlieren. [Die Nitroprussidreaktion und die Reduktion des Schwefels sind gleichzeitig vorhanden und verschwinden gleichzeitig durch Oxydation, d. h. durch Wegnahme des Sulfhydrylwasserstoffes[1]).] Gleiche Beobachtungen habe ich bei meinen Versuchen gemacht. Überschichtet man das Gewebe mit der Methylenblaulösung erst nach dem Abwägen bei einer größeren Anzahl von gleichzeitig angesetzten Versuchen, so werden 5 bis 6 mmg Methylenblau reduziert, dagegen 7,1 bis 9,4, wenn das Gewebe in die fertig abgemessene Lösung geworfen wird. Bei ersterer Methode erfordert natürlich die Zubereitung (Abwägen des Gewebes und Abmessen

[1]) Heffter a. a. O.

der Methylenblaulösung) mehr Zeit als bei der zweiten, wo das Gewebe in die schon fertig abgemessene Lösung hineingeworfen wird; das Gewebe ist bei der ersten Behandlung länger der Luft ausgesetzt. Noch klarer zeigt folgender Versuch, daß je nach der Länge der Lufteinwirkung die reduzierte Kraft abnimmt. Gewebe wird mit Wasser und mit physiologischer Kochsalzlösung extrahiert und filtriert. Während das Filtrat nicht reduziert, also keine reduzierenden Stoffe entzieht, reduziert der Rückstand, der während des einstündigen Filtrierens zum Luftabschluß mit Paraffin überschichtet war, 3,7 bis 4,4 mmg Methylenblau, ohne Paraffin 1,5 (normal 1 g zerhacktes Lebergewebe 7,8 mg Methylenblau). Bei einem weiteren Versuche reduziert ein 3 Stunden filtrierter Rückstand 0,4 bis 0,5 mg Methylenblau. Daß nicht etwa das Wasser die reduzierende Kraft zerstört, beweist ein Versuch, bei dem das Gewebe zwei Tage unter Luftabschluß fäulnisfrei gehalten wird und dann noch 4 bis 5 mg Methylenblau reduziert.

Das Resultat einiger weiterer Versuche scheint obiger Ansicht entgegen zu treten. Kocht man nämlich Gewebe in Wasser mit Paraffin überschichtet eine halbe Stunde lang, so verringert sich die reduzierende Kraft. Es reduziert 1 g gekochtes Lebergewebe:

Stunden	2	4	6	8	12	24	28	
Versuch 1	0,6 1,2	2,1 —	2,4 —	— —	— —	— —	— —	Reduzierte Milli-
Versuch 2	0,4 0,7	0,6 —	— —	0,9 1,5	0,8 2,6	3,0 —	2,7 —	milligramm Methylenblau

Stunden	30	36	48	72	96	120	144	
Versuch 1	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	Reduzierte Milli-
Versuch 2	2,1 —	1,9 —	1,2 —	4,0 —	3,8 5,0	4,8 —	4,7 —	milligramm Methylenblau

Ähnliche Abschwächungen treten bei erhitzten Lösungen der SH-Gruppen enthaltenden Verbindungen (z. B. Cystein) auf und beruhen wohl auf Abspaltung der Sulfhydrylgruppen (Heffter).

Überläßt man Lebergewebe unter Luftabschluß der Autolyse, so reduziert 1 g Lebergewebe, das einen Tag der Auto-

lyse unterworfen war, in den folgenden 2 Tagen noch 3,6; 4,5 mmg Methylenblau; das 2 Tage der Autolyse ausgesetzte 4,8; 5,3 mmg Methylenblau in den zwei darauffolgenden Tagen (normal reduzierte 1 g Lebergewebe desselben Kaninchens in zwei Tagen 7,8 mmg Methylenblau). Es treten also ebenso wie bei der Hefe, deren Reduktionskraft Heffter ebenfalls auf SH-Gruppen zurückführt, durch Autolyse Spaltungen ein, bei denen wahrscheinlich durch Umsetzung die Sulfhydrylgruppen untereinander durch Oxydation verknüpft werden.

Nachdem die vorigen Versuche ergeben hatten, daß die Reduktionswirkung durch Einwirkung von Luftsauerstoff, durch längeres Kochen und Autolyse abgeschwächt wird, habe ich untersucht, wie der Reduktionsprozeß bei Anwesenheit von Blausäure verläuft. Die Untersuchung war deswegen von besonderem Interesse, da Heffter gerade in der stark hemmenden Einwirkung der Blausäure auf die Nitratreduktion einen grundlegenden Unterschied dieses Vorganges gegenüber der Farbstoffreduktion gesehen hat.

Zunächst hat sich bei Versuchen mit reiner Thioglykolsäure (vgl. Tabelle) gezeigt, daß die Einwirkung auf Methylenblau durch Blausäure anfangs verzögert wird, daß aber schließlich nach 24 bis 48 Stunden das Ergebnis das gleiche, wie bei Abwesenheit von Blausäure ist.

Stunden	Reduzierte Millimilligramm Methylenblau durch 0,5 ccm Thioglykolsäurelösung 1,0/25,0							
	allein				in Gegenwart von Blausäure			
	Versuch 1		Versuch 2		Versuch 1		Versuch 2	
2	7,2	7,8	—	—	4,2	4,2	4,4	5,6
4	12,6	—	—	—	6,6	—	8,0	—
6	22,0	—	—	—	14,8	16,0	9,0	—
10	—	—	—	—	—	—	9,6	—
24	17,6	18,8	16,0	—	8,0	9,6	16,5	—
33	—	—	22,0	—	—	—	22,4	—
48	15,8	—	21,8	23,2	14,0	11,4	23,0	—
72	10,8	11,4	21,1	—	13,8	—	25,1	—
96	7,8	8,2	19,4	—	7,2	7,6	26,8	—
144	—	—	16,8	—	—	—	—	—
168	—	—	—	—	—	—	21,0	—

Gleiche Hemmung wie bei der Thioglykolsäure bewirkt die Blausäure auch bei normalem und gekochtem Gewebe. Das ergibt folgende Versuchsreihe:

Stunden	Reduzierte Millimilligramm Methylenblau durch:							
	a) 1,0 normales Lebergewebe				b) 1,0 gekochtes Lebergewebe			
	allein		in Gegenwart von Blausäure		in Gegenwart von Blausäure		allein	
2	2,2	2,33	0,5	1,2	—	—	0,4	0,75
4	4,35	—	2,4	—	0,4	0,6	0,65	—
6	4,3	5,0	1,8	2,6	—	—	—	—
8	5,25	—	2,5	2,8	1,2	1,7	0,9	—
10	6,95	—	2,9	—	—	—	—	—
12	6,6	8,4	2,6	—	0,85	1,75	0,8	2,6
24	8,35	—	4,1	—	1,7	—	3,0	—
30	9,2	—	5,1	—	1,9	—	2,1	—
36	9,4	—	4,7	—	2,0	—	1,9	—
48	9,6	—	5,2	—	3,1	—	1,25	—
72	9,15	—	7,2	8,6	3,8	5,0	4,0	—
96	10,4	—	7,1	—	4,6	—	5,0	3,8
120	10,3	—	8,1	—	5,4	—	4,8	—
144	8,9	—	7,2	—	—	—	4,7	—
168	—	—	7,8	—	—	—	—	—

1,0 Niere reduziert in Gegenwart von Blausäure in 2 Tagen:
a) 4,9 (normal 8,2) mmg Methylenblau,
b) 5,7.

Der analoge Umlauf des Reduktionsvorganges unter dem Einfluß von Blausäure bei der Thioglykolsäure und dem Lebergewebe spricht mit großer Wahrscheinlichkeit dafür, daß es sich im letzteren Falle nur um Sulfhydrylgruppen handelt.

2. Die Reduktion, welche die Sulfhydrylgruppen bedingt, wird durch Gewebebestandteile (Katalysatoren) beschleunigt.

Heffter erwähnt, daß Cystein in Gegenwart von Eisenchlorid und Dinatriumphosphat schneller als ohne Zusatz Methylenblau reduziert. Die gleiche Beobachtung habe ich auch bei Thioglykolsäure in Gegenwart von Gewebe als Katalysatoren gemacht.

Stunden	1. 0,5 Thioglykolsäurelösung (1,0/25,0) allein	2. 1,0 Leber	3. Berechnete Summe aus 1 und 2	4. 0,5 Thioglykolsäurelösung (1,0/25,0) + 1,0 Leber
2	7,8	3,0	10,8	17,4
4	12,6	4,8	16,8	20,8
24	18,8	8,3	27,1	31,2

Bei der Versuchsreihe dieser Tabelle habe ich zunächst (Stab 1) 0,5 ccm Thioglykolsäurelösung 1,0/25,0, dann (Stab 2) nur 1,0 Leber auf Methylenblau einwirken lassen, darauf (Stab 3) die Ergebnisse beider Versuchsreihen der gleichen Stundenzahl ent-

sprechend addiert, und zuletzt (Stab 4) 1,0 Gewebe und 0,5 Thioglykolsäurelösung gemeinsam auf Methylenblau wirken lassen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß im Gewebe Substanzen sind, durch die die reduzierende Wirkung der SH-Gruppen wesentlich beschleunigt wird.

Eine bemerkenswerte Eigenschaft dieses Beschleunigens ist ihre Kochbeständigkeit:

Stunden	Reduzierte Millimilligramm Methylenblau durch: 1,0 Leber gekocht	0,5 Thioglykolsäurelösung (1,0/25,0)	berechnet	0,5 Thioglykolsäurelösung (1,0/25,0) + 1,0 Leber gekocht		
2	1,2	7,8	9,0	14,6	15,8	Versuch 1
4	2,1	12,6	14,7	12,8(?)	17,0	
33	2,0	22,0	24,0	24,2	—	Versuch 2
48	1,25	23,2	24,45	24,8	26,0	
72	4,0	21,1	25,1	25,0	—	

Auch hier ist wieder die beschleunigende Wirkung der Gewebe auf die Reduktion in den ersten Stunden deutlich sichtbar.

Selbst bei Gegenwart von Blausäure ist dieser Einfluß, wenn auch verringert, zu erkennen, was folgende Versuchsreihen zeigen:

Stunden	Reduzierte Millimilligramm Methylenblau in Gegenwart von Blausäure durch: 1,0 normales Gewebe	0,5 Thioglykolsäurelösung (1,0/25,0)	berechnet	0,5 Thioglykolsäurelösung (1,0/25,0) + normales 1,0 Gewebe
2	1,2	5,6	6,8	8,4
4	2,4	8,0	10,4	10,0
6	2,6	9,0	11,6	14,0
10	2,9	9,6	12,5	16,6
30	5,1	20,0	25,1	26,7
36	4,7	21,9	26,6	28,8
48	5,2	23,0	28,2	28,6

Stunden	Reduzierte Millimilligramm Methylenblau in Gegenwart von Blausäure durch: 1,0 gekochtes Gewebe	0,5 Thioglykolsäurelösung (1,0/25,0)	berechnet	0,5 Thioglykolsäurelösung (1,0/25,0) + 1,0 gek. Gewebe	
2	0,6	5,6	6,2	9,2	10,0
4	0,6	8,0	8,6	10,4	—
6	1,0	9,0	10,0	13,2	—
10	1,7	9,6	11,3	13,2	14,4
30	1,9	20,7	22,6	19,8	—
36	2,0	21,9	23,9	20,8	21,9
48	3,1	23,0	26,1	25,6	—

3. Die Einwirkung von Giften, Blutverlust, Hunger und Muskelkraft auf die reduzierende Kraft des Gewebes.

In Gegensatz zu den Versuchen im vorhergehenden Teil, in dem das Gewebe erst nach Tötung des Tieres der fremden Einwirkung ausgesetzt war, sind in den folgenden Versuchen die lebenden Tiere den fremden Einflüssen ausgesetzt, und ihr Gewebe sofort nach ihrem Tode zu den Versuchen verwendet worden.

A. Der Einfluß von Giften auf die reduzierende Kraft des Gewebes.

Es sind zunächst folgende Gifte untersucht worden: Blausäure, Phosphor, arsenige Säure, Sublimat, Natriumnitrit, Leuchtgas, Chloralhydrat, Äther.

Um die hervorgerufenen Veränderungen zu beurteilen, muß man sich gegenwärtig halten, daß als Vergleichswert für die normale Reduktionsfähigkeit der Leber als Mittel aus 12 Versuchen 8,3 mmg Methylenblau für 1 g Lebergewebe anzusehen ist. Für die normale Niere wurden 6,8 mmg Methylenblau auf 1 g ermittelt.

Versuch 1. Einem Kaninchen wurden 9 mg Blausäure pro Kilogramm injiziert, tot nach einigen Minuten unter Krämpfen.

1 g Lebergewebe reduzierte in 2 Tagen nur 5,8 mmg Methylenblau im Mittel.

Dieser Versuch zeigt, wie die Versuche im vorigen Teile, ebenfalls die hemmende Einwirkung der Blausäurevergiftung auf die reduzierende Kraft.

Versuch 2. 2 Kaninchen wurden 0,01 Phosphor pro Kilogramm, nach 6 Tagen nochmals dieselbe Menge injiziert, das eine (a) tot nach 9 Tagen, das andere (b) tot nach 11 Tagen.

1 g Lebergewebe (a) reduzierte in 2 Tagen im Mittel 3,3 mmg Methylenblau,

1 g Nierengewebe (a) 5,3,

1 g Lebergewebe (b) 5,75,

1 g Nierengewebe (b) 4,25.

Es ergab sich somit in beiden Versuchen eine deutliche Verminderung der reduzierenden Eigenschaften, als deren Ursache man die durch den Phosphor bewirkten Zellveränderungen in Leber und Niere ansehen darf. Diese Annahme wird noch dadurch bestärkt, daß das Lebergewebe a, das schwächer reduzierte, dem makroskopischen Aussehen nach stärker mit Fett durchsetzt war.

Da arsenige Säure ähnliche Veränderungen hervorruft wie Phosphor, so wird auch bei der Arsenvergiftung die reduzierende Kraft vermindert.

Versuch 3. Einem Kaninchen wurden täglich 0,004 arsenige Säure pro Kilogramm außer am 3. Tage injiziert, tot nach 5 Tagen.

Es reduzierte 1 g Lebergewebe in 2 Tagen 4,85 mmg Methylenblau im Mittel,

1 g Nierengewebe 6,0.

Entgegen den soeben untersuchten Giften ist bei der Sublimatvergiftung kein Einfluß auf die reduzierende Wirkung des Gewebes festzustellen.

Versuch 4. Einem Kaninchen wurden täglich 0,0028 Sublimat pro Kilogramm injiziert, tot nach 2 Tagen.

Es reduzierten 1 g Lebergewebe in 2 Tagen im Mittel 8,4 mg Methylenblau, 1 g Nierengewebe 6,4, trotzdem der Urin eine deutliche Eiweißreaktion gab.

Ferner wurde untersucht, ob durch Blutgifte, also durch Störung der inneren Atmung, die Reduktionsfähigkeit des Gewebes beeinflußt wird.

Versuch 5. a) Einem Kaninchen (950 g) werden 0,1 Natriumnitrit injiziert, nach 1 Stunde 0,2, tot nach $1^1/_2$ Stunde unter Krämpfen.

b) Einem Kaninchen (1000 g) wurden 0,1 Natriumnitrit injiziert, nach 1 Stunde 0,2, tot nach $^1/_2$ Stunde unter Krämpfen.

c) Einem Kaninchen (1350 g) wurden 0,075 Natriumnitrit injiziert, nach $^1/_2$ Stunde 1,0, nach $1^1/_2$ Stunde 1,0, nach $^1/_2$ Stunde 1,0, tot nach 5 Minuten unter Krämpfen.

Es reduzierten in 2 Tagen 1 g Lebergewebe im Mittel

a) 6,0,
b) 6,0,
c) 6,7 mmg Methylenblau;

1 g Nierengewebe

a) 5,7,
b) 5,4,
c) 2,8 mmg Methylenblau.

Versuch 6. Ein Kaninchen wurde durch Leuchtgas nach 5 Minuten unter Krämpfen erstickt.

Es reduzierte 1 g Lebergewebe in 2 Tagen im Mittel 7,5 mg Methylenblau,

1,0 Niere 5,8.

Beide Blutgifte, sowohl Natriumnitrit wie Leuchtgas, haben nach diesen Versuchen keine Einwirkung auf die reduzierende Kraft des Gewebes oder schwächen dieselbe nur unerheblich.

Nachdem die chemische Einwirkung auf die innere Atmung durch Blutgifte geprüft worden war, sollte jetzt der hemmende Einfluß auf die innere Atmung durch Blutentnahme untersucht werden.

Versuch 7. Einem kleinen Kaninchen wurden 50 ccm Blut entnommen und durch ebensoviel physiologische Kochsalzlösung ersetzt; am folgenden Tage getötet, reduzierte 1 g Lebergewebe in 2 Tagen im Mittel 8,35 mmg Methylenblau, 1,0 Niere 7,4.

Es wurden also, um den Sauerstoffverbrauch, der durch die geringe Menge Blut kleiner wird, zu erhöhen, nicht mehr reduzierende Stoffe im Gewebe gebildet.

Die Wirkung der Narkotica der Fettreihe hat Herter[1]) untersucht, wenn auch nur qualitativ, und dabei festgestellt, daß durch Äther die reduzierende Kraft des Gewebes verringert wird, durch Chloralhydrat aber keine Veränderung eintritt.

Versuch 7. Einem Kaninchen wurde 1 g Chloralhydrat pro Kilogramm mit der Magensonde eingegeben. Das Tier fiel sehr schnell in tiefen Schlaf und wurde nach 3 Stunden getötet.

1 g Lebergewebe reduzierte in 2 Tagen im Mittel 7,7 mmg Methylenblau,

1 g Niere 6,65 mmg.

Versuch 8. Ein Kaninchen wurde 30 Minuten mit 31 g Äther narkotisiert, tot in der Narkose.

Es reduzierte 1 g Lebergewebe in 2 Tagen im Mittel 6,7 mmg Methylenblau,

1 g Niere 6,9 mmg.

Während Herter bei Äther Reduktionsverringerung beobachtete, ist aus meinem Versuch keine deutliche Änderung der Reduktionskraft zu ersehen, ebensowenig wie bei Chloralhydrat.

B. Der Einfluß des Hungers auf die reduzierende Kraft des Gewebes.

Versuch 9. Ein Tier hungerte und starb nach 6 Tagen.

Es reduzierte 1 g Lebergewebe in 2 Tagen im Mittel 4,0 mmg Methylenblau,

1 g Niere 5,3 mmg.

---

[1]) Herter, a. a. O.

Auch hier tritt wieder wie bei Phosphor und Arsen durch Schwinden von normalem Gewebe eine Verminderung der reduzierenden Kraft ein.

C. Die reduzierenden Stoffe des Muskels und ihr Verhalten bei der Arbeit.

Gscheidlen[1]) fand in seinen Versuchen über das Reduktionsvermögen des Muskels, daß die Reduktionswirkung auf indigschwefelsaures Natron zwischen tätigem und ruhendem Muskel nicht immer die gleichen Resultate gab, daß vielmehr Indigo vom tätigen Muskel stärker reduziert wird als vom ruhenden Muskel. Gscheidlen führt das Reduktionsvermögen des Muskels auf milchsaure Alkalien zurück. Ebenso soll nach seiner Ansicht Milchsäure, Zucker und Glykogen reduzieren. Alle diese Stoffe haben ganz und gar nicht reduzierende Eigenschaften auf Farbstoffe, sondern nur die bei diesen Versuchen unsterilen Lösungen wirkten infolge ihres Bakteriengehaltes reduzierend. Gleiche Bewandtnis hat die Reduktion durch Fäulnis, Fibrin, Eiweiß. Daß das Muskelgewebe an und für sich Methylenblau reduziert, habe ich auch beobachtet, dagegen habe ich keinen Unterschied zwischen dem Reduktionsvermögen des tätigen Muskels und dem des ruhenden auf Methylenblau feststellen können, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht:

Versuch 10. 2 Kaninchen wurde der Plexus cruralis einerseits freigelegt und die innervierten Schenkelmuskeln daselbst bis zur Erschöpfung tetanisiert.

Es reduzierte 1 g ruhender Muskel in 2 Tagen

a) 1,3 1,85 2,75 mmg Methylenblau,
b) 0,8 1,4 1,0;

1 g gereizter Muskel

a) 1,3 2,3 2,5 2,5,
b) 1,0 0,15 mg Methylenblau.

Auf Grund vorliegender Versuche glaube ich dargelegt zu haben, daß die reduzierende Wirkung des Gewebes auf Methylenblau auf den labilen Wasserstoff von Sulfhydrylgruppen zurückzuführen ist, der ja nach Heffter auch Schwefel, andere Farb-

[1]) Rich. Gscheidlen, Pflügers Archiv 8, 506.

stoffe, Tellur- und Selenverbindungen usw. mit Ausnahme der Nitrate und des Nitrobenzols reduziert.

Diesen Beweisen scheinen einige Beobachtungen zu widersprechen, da Kochen des Gewebes und Autolyse einen vermindernden, Blausäure einen hemmenden Einfluß auf die Reduktionskraft besitzen. Heffter erwähnt, daß Hahn Verringerung bis Verlust der Reduktionskraft des Preßhefesaftes bei längerem Aufbewahren gefunden hat, Johannsen u. a. ebenso beim Erhitzen von tierischem Gewebe; eine Tatsache, die auf die leichte Veränderlichkeit der Sulfhydrylgruppen zurückzuführen ist, und zwar bei der Autolyse auf Endotryptase, beim Kochen auf Abspaltung der Sulfhydrylgruppen. Die hemmende Einwirkung auf die Reduktionskraft durch Blausäure zu zeigen, ist mir ja auch bei Thioglykolsäure gelungen, die doch ebenfalls Sulfhydrylgruppen enthält.

Ferner spricht für das Vorhandensein von Sulfhydrylgruppen die Fähigkeit der Autoxydation, die ja diesen Verbindungen in verschieden starkem Maße zukommt, wodurch die reduzierende Wirkung schwindet.

Die Reduktion dieser Sulfhydrylgruppen wird, wie z. B. bei Thioglykolsäure durch gewisse Gewebebestandteile (Katalysatoren), die weder durch Kochen noch durch Blausäure beeinflußt werden, beschleunigt.

Neben den schon erwähnten vorübergehenden wie bleibenden Einflüssen auf die Reduktionskraft des Gewebes haben nur diejenigen Verbindungen und Eingriffe längere oder dauernde Einwirkung, die mit Verlust oder Verfettung von Gewebe einhergehen, so z. B. der Hunger durch Gewichtsabnahme, Phosphor und arsenige Säure durch Gewebsverfettung; dagegen haben Sublimat, Natriumnitrit, Leuchtgas, Blutverlust, Chloralhydrat, Äther und Muskelarbeit keine bleibende Einwirkung auf den normalen Verlauf der reduzierenden Kraft des Gewebes.

Lebenslauf.

Paul, Eduard, Walter Straßner, bin geboren am 11. Mai 1881 zu Ruhland, Kreis Hoyerswerda (Oberlausitz) als Sohn des 1909 verstorbenen Geheimen Medizinalrates Fedor Straßner und seiner Ehefrau Bertha, geb. Hahn, evangelischer Religion. Meine Schulausbildung erhielt ich in der Volksschule zu Ruhland, auf dem Gymnasium zu Halberstadt und dem Domgymnasium zu Magdeburg. 1901 trat ich in die Ratsapotheke zu Magdeburg als Lehrling ein, verließ dieselbe jedoch 1902, um das Zeugnis der Reife auf der Klosterschule zu Roßleben zu erlangen. Von 1904 ab widmete ich mich dem medizinischen Studium zu Halle a. S., Bonn, Rostock und München. 1906 bestand ich in Rostock die ärztliche Vorprüfung, 1907 wurde ich in die Kaiser Wilhelms-Akademie für das militärärztliche Bildungswesen aufgenommen, 1909 zum Marine-Unterarzt ernannt und an demselben Tage zur praktischen Ausbildung in die Charité kommandiert. 1910 legte ich zu Berlin meine ärztliche Prüfung vor der dortigen Kommission ab, um die Berechtigung zur Ausübung der praktischen ärztlichen Tätigkeit zu erlangen.